

AKTIVITAS ANTIHIPERGLIKEMIK DARI EKSTRAK ETANOL DAN n-HEKSANA DAUN KEMBANG BULAN [*Tithonia diversifolia* A.Gray] PADA TIKUS PUTIH JANTAN

Ary Rizki Darmawi, Chairul Saleh, Rudi Kartika

Program Studi Kimia, Fakultas MIPA, Universitas Mulawarman
Jl. Barong Tongkok No.4 Kampus Gunung Kelua Samarinda 75123
Email: Ary.chem.010@gmail.com

ABSTRACT

Phytochemical test and antihyperglycemic activity from ethanol extract dan n-hexane extract from kembang bulan (*Tithonia diversifolia* A.Gray) leaf has been carried out. Based on the test result of phytochemistry of secondary metabolites compounds from kembang bulan (*Tithonia diversifolia* A.Gray) leaf showed that ethanol extract fraction containing flavonoid, fenolik, alkaloid and saponin. Whereas at n-hexane extract fraction containing alkaloid, saponin and steroid. Antihyperglycemic activity test using the method of glucose tolerance where a white male rats got induced by sucrose. Measurement of blood sugar levels using glucometer and glucose test strip. From this test shows that the most active fractions to reduce blood sugar levels was ethanol extract with a dose of 77 mg/kg BB with percentage of blood sugar levels reduction in the amount of 54.15 % it was close with reduction percentage from acarbose as positive control in the amount of 55.57 %.

Keywords : kembang bulan (*Tithonia diversifolia* A.Gray) leaf, phytochemistry test, antihyperglycemic activity, glucose tolerance, glucometer and glucose test strip.

A. PENDAHULUAN

Diabetes Mellitus (DM) adalah keadaan hiperglikemik kronik disertai berbagai kelainan metabolik akibat gangguan hormonal yang menimbulkan berbagai komplikasi kronik pada mata, ginjal, saraf dan pembuluh darah (Mansjoer, 1999). Hiperglikemia yang berlangsung lama dapat berkembang menjadi keadaan metabolisme yang berbahaya, antara lain ketoasidosis diabetik (DKA) yang dapat berakibat fatal dan membawa kematian. Hiperglikemia dapat dicegah dengan kontrol kadar gula darah yang ketat. Ada dua macam obat antihiperglikemik, yaitu berupa suntikan insulin dan obat antidiabetik oral yang meliputi golongan sulfonilurea, biguanida, thiazolidinedion dan inhibitor alfa-glukosidase (Mansjoer, 1999).

Tumbuhan kembang bulan umumnya digunakan sebagai obat luka atau luka lebam, dan sebagai obat sakit

perut kembung. Banyak juga digunakan sebagai obat lepra, penyakit lever, obat diabetes dan sebagai antikanker. Dari penelitian yang dilakukan oleh Asri Sulistijowati S dan Didik Gunawan bahwa tanaman kembang bulan ini mengandung zat aktif yang termasuk golongan minyak atsiri, alkaloid, flavonoid, saponin, triterpenoid dan polifenol. Daun kembang bulan sedikitnya mengandung 12 senyawa terpenoid dan 14 senyawa flavonoid.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui apakah ekstrak etanol dan n-heksana daun kembang bulan dapat menurunkan kadar glukosa darah dan seberapa besar efek antihiperglikemik ekstrak etanol dan n-heksana daun kembang bulan dibandingkan dengan obat antidiabetes acarbose. Pada penelitian ini, pengukuran kadar glukosa didalam darah menggunakan metode tes toleransi glukosa oral (TTGO) pada waktu menit ke- 0 hingga menit ke- 180.

B. METODOLOGI PENELITIAN

2.1. Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain neraca analitik, rotary evaporator vakum, Beaker Glass, syringe 3 cc, desikator, mortir, corong kaca, tabung reaksi, rak tabung reaksi, bejana maserasi, kertas saring whatman no 42, pompa vakum, blender, batang pengaduk, pipet tetes, labu ukur 100 mL, labu ukur 25 mL, labu ukur 10 mL, pipet volume 1 mL, gelas ukur, Hot Plate, mikropipet 200-1000 µl, Gluco Test Strip, Glucometer, spatula, gunting bedah, botol semprot.

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain; Daun kembang bulan (*Tithonia diversifolia* A.

Gray), etanol 95 % teknis, n-heksan, larutan FeCl₃ 1% , aquades, campuran Bi(NO₃)₃·5H₂O dalam larutan asam nitrat dan larutan KI, sukrosa, acarbose, CMC Na 0,5%, H₂SO₄ pekat, HgCl₂, asam asetat glacial, HCl pekat, aluminium foil, kertas saring Whatman, kertas label, hewan uji yang digunakan tikus putih jantan umur 2-3 bulan, sehat, berat badan ±180- 200 gr.

2.2. Prosedur Kerja

2.2.1 Preparasi Sampel

Sampel daun kembang bulan yang telah dikumpulkan dibersihkan dari kotoran yang menempel

dengan air mengalir lalu dikeringanginkan tanpa terpapar matahari hingga kering. Kemudian sampel daun kering dihaluskan dengan blender. Tikus putih jantan sebelum pengujian diadaptasikan terlebih dahulu selama dua minggu untuk mengetahui kadar glukosa darah tikus dalam keadaan normal.

2.2.2 Ekstraksi dan Fraksinasi

Sampel yang telah kering dan halus ditimbang 200 gr kemudian dimasukkan kedalam bejana maserasi. Sampel dimaserasi dengan etanol 95 %. Proses ekstraksi dilakukan dalam suhu ruang. Setelah itu disaring dan dipekatkan dengan *rotary evaporator*. Dilakukan fraksinasi ekstrak kasar etanol dengan menggunakan *n*-heksana (1 : 1) sehingga diperoleh dua fraksi yaitu fraksi etanol dan fraksi *n*-heksana.

2.2.3 Uji Fitokimia (Harborne, 1987)

a). Uji Alkaloid

Ekstrak etanol dan ekstrak *n*-heksana daun kembang bulan (*Tithonia diversifolia* A. Gray) diteteskan di kertas saring atau pelat KLT. Selanjutnya ekstrak tersebut disemprot dengan pereaksi Dragendroff (campuran $\text{Bi}(\text{NO}_3)_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ dalam asam nitrat dan larutan KI). Adanya alkaloid ditunjukkan dengan terbentuknya bercak cokelat jingga berlatar warna kuning.

b). Uji Steroid/Triterpenoid

Ekstrak etanol dan ekstrak *n*-heksana daun kembang bulan (*Tithonia diversifolia* A. Gray) ditambahkan 3 tetes pereaksi Lieberman-Burchard (asam asetat glasial + H_2SO_4 pekat). Uji positif triterpenoid memberikan warna merah atau ungu dan uji positif steroid memberikan warna hijau atau biru.

c). Uji Flavonoid

Ekstrak etanol dan ekstrak *n*-heksana daun kembang bulan (*Tithonia diversifolia* A. Gray) ditambahkan 2 mg serbuk Mg dan 3 tetes HCl pekat. Uji positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna merah, kuning atau jingga.

d). Uji Fenolik

Ekstrak etanol dan ekstrak *n*-heksana daun kembang bulan (*Tithonia diversifolia* A. Gray) ditambahkan larutan besi (III) klorida (FeCl_3) 10% beberapa tetes, ekstrak positif mengandung fenolik apabila menghasilkan warna hijau, merah dan ungu.

(e). Uji Saponin

Ekstrak etanol dan ekstrak *n*-heksana daun kembang bulan (*Tithonia diversifolia* A. Gray) ditambah air panas, dikocok kuat, jika timbul busa ditambahkan 1 tetes HCl pekat. Ekstrak positif mengandung saponin jika timbul busa dengan ketinggian 1-3 cm yang bertahan selama 15 menit.

2.2.4 Pembuatan Larutan

a). Larutan Sukrosa

Menurut Kanon (2012), dosis sukrosa yang digunakan untuk tikus adalah 5625 mg/kg BB. Banyaknya sukrosa yang akan digunakan, dihitung berdasarkan berat badan masing-masing tikus, kemudian dilarutkan dalam

aquades sebanyak 2,5 mL dan diinduksi pada masing-masing tikus.

b). Pembuatan suspensi CMC-Na 0,5 %

Sebanyak 0,5 g CMC ditaburkan dalam gelas piala yang berisi ± 10 mL aquades yang telah dipanaskan. Didiamkan selama 15 menit hingga diperoleh massa yang transparan, lalu dicampur sampai homogen. Larutan CMC dipindahkan ke labu ukur 100 mL dan dicukupkan volumenya dengan aquades hingga tanda tera.

c). Pembuatan Suspensi Acarbose

Dosis acarbose pada manusia dewasa adalah 50 mg, jika dikonversikan pada tikus dengan berat 200 g adalah 0,2 mg/200 g BB, maka dosis acarbose untuk tikus adalah 0,2 mg/200 g BB. Sehingga ditimbang 5,2 mg acarbose kemudian disuspensikan kedalam 1 mL CMC-Na 0,5 % dalam mortir lalu dimasukkan kedalam labu ukur 10 mL dan ditambahkan aquades hingga tanda tera.

d). Pembuatan Suspensi Ekstrak Etanol dan *n*-heksana 1 % (b/v)

Sebanyak 10 ml aquades panas ($\pm 60^\circ\text{C}$) dimasukkan kedalam mortir, kemudian sebanyak 0,5 mg CMC ditaburkan secara merata, ditutup dan dibiarkan selama ± 15 menit hingga diperoleh massa transparan lalu digerus hingga homogen. Kedalam 250 mg ekstrak etanol dan *n*-heksana daun kembang bulan ditambahkan gel CMC sedikit demi sedikit. Kemudian ditambahkan aquades, diaduk dengan cepat hingga terbentuk suspensi, lalu dimasukkan kedalam labu ukur 25 ml dan diencerkan dengan aquades hingga tanda tera.

2.3.5 Uji Antihiperglikemik

a). Perlakuan Awal Media Uji

Tikus putih dipuasakan selama 16 jam. Tikus yang dikelompokkan secara acak menjadi 8 kelompok masing-masing 3 ekor kemudian berat badan tikus ditimbang dan diukur kadar gula darah puasanya. Lalu dibebankan larutan sukrosa secara oral. Setelah 30 menit diukur kembali kadar gula darah tikus. Kelompok uji antara lain, CMC-Na 0,5 %, acarbose, kelompok ekstrak etanol dan *n*-heksana dengan dosis 39 mg/kg BB, 77 mg/kg BB, 154 mg/kg BB.

b). Penentuan Kadar Glukosa Dalam Darah

Kadar glukosa darah masing-masing kelompok diukur pada selang waktu 60, 90, 120, 150 dan 180 menit. Kadar glukosa ditentukan dengan mengambil darah pada ekor tikus dengan cara memotong ujung ekor kemudian ekor dipijat dengan pelan hingga darah keluar. Darah kemudian dimasukkan kedalam *Gluco Test Strip* kemudian dibaca menggunakan alat Glucometer. Data yang dihasilkan merupakan kadar glukosa dalam darah (mg/dL).

C. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1 Ekstraksi dan Fraksinasi

Rendemen ekstrak kasar etanol yang diperoleh adalah 7.26 % dengan bobot ekstrak 14.52 gram dari 200 gram sampel daun kembang bulan kering. Kemudian 5 gram ekstrak kasar tersebut difraksinasi dengan *n*-heksana

hingga diperoleh dua fase (fase bawah etanol dan fase atas *n*-heksana). Hasil Fraksinasi adalah sebagai berikut.

Jenis Senyawa	Berat (gram)	Rendemen (%)
Ekstrak Kasar	5 gram	-
Ekstrak Fraksi Etanol	2,5 gram	50 %
Ekstrak Fraksi <i>n</i> -heksana	2 gram	40 %

3.2 Uji Fitokimia

Dari hasil analisa fitokimia secara kualitatif diperoleh kandungan senyawa metabolit sekunder pada ekstrak kasar etanol adalah alkaloid, flavonoid, fenolik, steroid dan saponin. Pada ekstrak fraksi etanol adalah alkaloid, flavonoid, fenolik dan saponin. Pada ekstrak fraksi *n*-heksana adalah alkaloid dan steroid. Rincian hasil uji fitokimia secara rinci diringkas di tabel dibawah ini.

Jenis Senyawa	Jenis Ekstrak		
	Ekstrak Kasar Etanol	Fraksi Etanol	Fraksi <i>n</i> -heksana
Alkaloid	+	+	+
Flavonoid	+	+	-
Steroid	+	-	+
Terpenoid	-	-	-
Fenolik	+	+	-
Saponin	+	+	-

Keterangan : (+): terdapat senyawa metabolit sekunder
(-): tidak terdapat senyawa metabolit sekunder

Flavonoid merupakan senyawa aktif bahan alam yang telah diteliti memiliki aktivitas antihiperglikemik. Hal ini sejalan dengan Thu Phan *et al.* (2013) yang melaporkan bahwa komponen flavonoid dari *Epimedium brevicornum* memberikan penghambatan kuat dan spesifik terhadap α -glukosidase. Ho dan Bray (1999) mengungkapkan mekanisme inhibisi dari flavonoid terhadap enzim α -glukosidase adalah melalui ikatan hidroksilasi dan substitusi pada cincin β .

3.3 Uji Antihiperglikemik

3.3.1 Uji Antihiperglikemik Ekstrak Etanol Daun Kembang Bulan

Uji antihiperglikemik ekstrak fraksi etanol daun kembang bulan (*Tithonia diversifolia* A. Gray) menggunakan dosis berturut-turut 39 mg/kg BB, 77 mg/kg BB dan 154 mg/kg BB yang diberikan secara peroral pada tikus putih jantan dengan rentang waktu 0, 30, 60, 90, 120, 150 dan 180 menit. Digunakan variasi waktu untuk

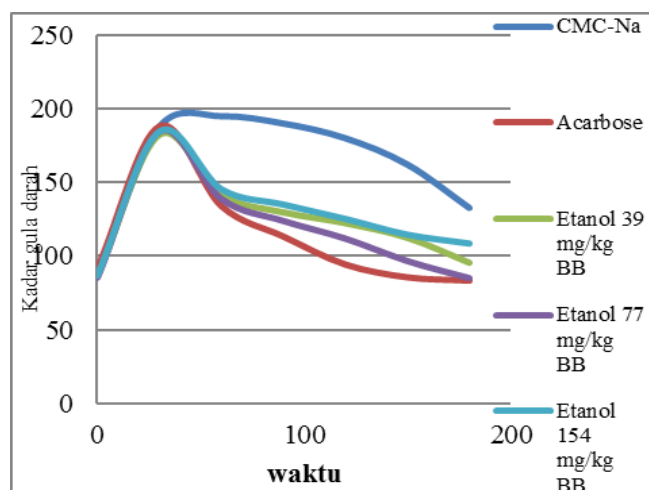
mengetahui efek jangka pendek perlakuan terhadap kadar glukosa darah tikus putih, sedangkan untuk variasi dosis adalah untuk mengetahui pada dosis berapakah kemampuan senyawa aktif yang terdapat didalam daun kembang bulan dalam menurunkan kadar glukosa darah tikus putih yang hiperglikemik. Hasil pengukuran kadar glukosa darah kelompok ekstrak etanol secara ringkas dirincikan di tabel di bawah ini.

Kelompok	Kadar Glukosa Darah						
	0	30	60	90	120	150	180
K (-)	87.3	188	195.33	190.33	180.33	162.33	132.67
K (+)	91.7	188.33	134.33	113.67	94.67	86	83.67
(TS ₁)	85.7	182.67	141.67	129.67	122.33	112.33	95.33
(TS ₂)	85	184.67	138.67	123.67	111.67	96.33	84.67
(TS ₃)	87	184.33	145.33	135	125.33	114.67	108.67

Keterangan :

- (K-) : Kontrol negatif diberi CMC 0,5 % (*Carboxyl Methyl Cellulose* 0,5 %)
(K+) : Kontrol Positif diberi Acarbose dosis 0,2 mg
(TS₁) : Kontrol Perlakuan Fraksi Ekstrak Etanol Daun Kembang Bulan dengan dosis 39 mg/KgBB
(TS₂) : Kontrol Perlakuan Fraksi Ekstrak Etanol Daun Kembang Bulan dengan dosis 77 mg/KgBB
(TS₃) : Kontrol Perlakuan Fraksi Ekstrak Etanol Daun Kembang Bulan dengan dosis 154 mg/KgBB

Penurunan kadar glukosa darah ditunjukkan dalam grafik di bawah ini,



3.3.2 Uji Antihiperglikemik Ekstrak *n*-Heksana Daun Kembang Bulan

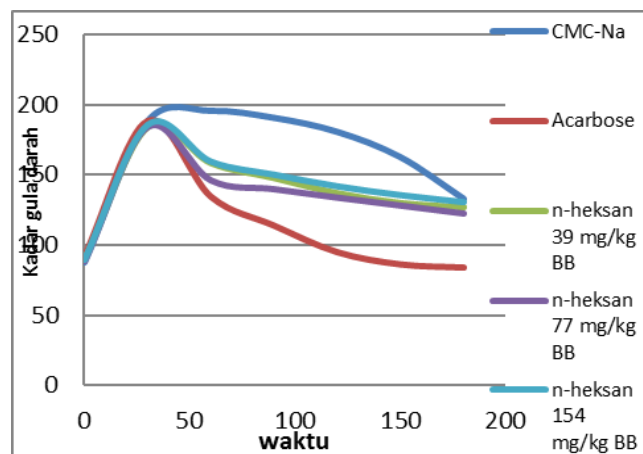
Uji antihiperglikemik ekstrak fraksi *n*-heksana daun kembang bulan (*Tithonia diversifolia* A. Gray) menggunakan dosis berturut-turut 39 mg/kg BB, 77 mg/kg BB dan 154 mg/kg BB yang diberikan secara peroral pada tikus putih jantan dengan rentang waktu 0, 30, 60, 90, 120, 150 dan 180 menit. Hasil pengukuran kadar glukosa darah kelompok ekstrak *n*-heksana secara ringkas dirincikan di tabel di bawah ini.

Kelompok	Kadar Glukosa Darah						
	0	30	60	90	120	150	180
K (-)	87.33	188	195.33	190.33	180.33	162.33	132.67
K (+)	91.67	188.33	134.33	113.67	94.67	86	83.67
(TS ₁)	89	184	158.33	147.67	136.67	129.67	126.67
(TS ₂)	88.67	184.33	146.33	140	134	128.33	122.67
(TS ₃)	89.33	186	159.67	150.33	142	135.67	130.67

Keterangan :

- (K-) : Kontrol negatif diberi CMC 0,5 % (*Carboxyl Methyl Cellulose* 0,5 %)
- (K+) : Kontrol Positif diberi Acarbose dosis 0,2 mg
- (TS₁) : Kontrol Perlakuan Fraksi Ekstrak n-heksana Daun Kembang Bulan dengan dosis 39 mg/KgBB
- (TS₂) : Kontrol Perlakuan Fraksi Ekstrak n-heksana Daun Kembang Bulan dengan dosis 77 mg/KgBB
- (TS₃) : Kontrol Perlakuan Fraksi Ekstrak n-heksana Daun Kembang Bulan dengan dosis 154 mg/KgBB

Penurunan kadar glukosa darah ditunjukkan dalam grafik di bawah ini,



Berdasarkan data di atas dapat diperoleh persen penurunan dari masing-masing kelompok perlakuan adalah sebagai berikut,

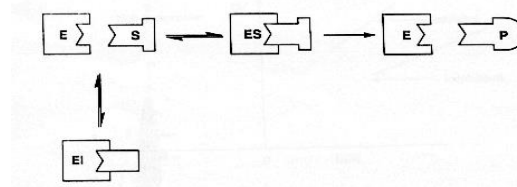
Kelompok	Menit ke 30	Menit ke 80	Persentase penurunan
Kontrol negatif	188.33	132.67	-
Kontrol positif	188.33	83.67	55.57 %
Etanol 39mg/kg BB	182.67	95.33	47.81 %
Etanol 77 mg/kg BB	184.67	84.67	54.15 %
Etanol 154 mg/kg BB	184.33	108.67	41.05 %
n-heksana 39 mg/kg BB	184	126.67	31.16 %
n-heksana 77 mg/kg BB	184.33	122.67	33.45 %

n-heksana 154 mg/kg BB	186	130.67	29.75 %
------------------------	-----	--------	---------

Berdasarkan data di atas dapat dilihat penurunan kadar glukosa darah masing-masing kelompok dimana kontrol positif dapat menurunkan kadar glukosa darah sebesar 55.57 % dan dari kelompok perlakuan ekstrak dapat dilihat bahwa ekstrak etanol dengan dosis 77 mg/kg BB dapat menurunkan kadar glukosa darah sebesar 54.15 % dimana persen penurunan tersebut mendekati persen penurunan kontrol positif. Pemberian sukrosa 5625 mg/kg BB dapat meningkatkan kadar glukosa darah sebesar < 50%.

3.3.3 Penghambatan Enzim Alfa-Glukosidase

Acarbose merupakan salah satu obat penurun gula darah yang berkerja menghambat kerja dari enzim dimana acarbose berperan sebagai inhibitor terhadap enzim sukrase, maka kerja dari enzim ini akan dihambat secara reversibel kompetitif, sehingga tidak semua sukrosa dapat dihidrolisis menjadi glukosa dan fruktosa dan terjadi penurunan absorpsi glukosa.



Gambar 1. Inhibisi reversibel kompetitif; inhibitor dan substrat berkompetisi pada sisi aktif enzim. E = enzim; S = substrat; I = inhibitor; ES = kompleks enzim substrat; EI = kompleks enzim inhibitor; P = produk.

Sukrosa yang tidak terhidrolisis selanjutnya akan dicerna didalam usus besar oleh bakteri. Inhibisi reversible kompetitif adalah suatu keadaan dimana inhibitor memiliki bentuk yang hamper sama dengan enzim sehingga inhibitor akan berkompetisi untuk berikatan dengan sisi aktif enzim dengan substrat.

D. KESIMPULAN

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa :

1. Dosis ekstrak etanol 77 mg/kg BB memiliki efek antihiperglikemik yang mendekati kontrol positif yaitu acarbose. Dimana dosis ekstrak etanol 77 mg/kg BB mampu menurunkan kadar glukosa darah sebesar 54.15 % sedangkan acarbose mampu menurunkan kadar glukosa darah sebesar 55,57 %. Dan dari hasil penelitian tersebut dapat disimpulkan bahwa daun kembang bulan (*Tithonia diversifolia* A.Gray) dapat digunakan sebagai agen antihiperglikemik untuk menurunkan kadar glukosa darah.
2. Senyawa metabolit sekunder yang terdapat di dalam daun kembang bulan (*Tithonia diversifolia* A.Gray) adalah alkaloid, flavonoid, steroid, fenolik dan saponin.

DAFTAR PUSTAKA

1. Dalimartha, S. 1999. *Ramuan Tradisional Untuk Pengobatan Diabetes Mellitus*. Jakarta : Penebar Swadaya.
2. Lehninger, L. A. 1982. *Dasar-dasar Biokimia Jilid 3*. Jakarta : Gelora Aksara Pratama.
3. Harbone, B., J. 1987. *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Penerjemah Kosasih, P., dan Iwang Soediro. Bandung : Penerbit ITB.
4. Ho, E. dan Bray, T. M. 1999. *Antioxidants, NFKB activation, and diabetogenesis*. Proceeding of The Society for Experimental Biology and Medicine.
5. Kanon, M. Q., Fatimawati, W. Bodhi. 2012. *Uji Efektivitas Ekstrak Kulit Buah Salak (Salacca Zalacca (Gaertn) Voss) Terhadap Penurunan Kadar Gula Darah Tikus Putih Jantan Galur Wistar (Rattus norvegicus L) Yang Diinduksi Sukrosa*. *Pharmakon* 1 : 52-58.
6. Mansjoer, A. 1999. *Kapita Selekta Kedokteran*. Jakarta : Media Aesculapius.
7. Muray, R. K., D. K. Graner, P. A. Rodwel and Victoe W. (2003). *Biokimia Harper* Edisi 25. EGC. Jakarta.
8. Poedjiadi, A. 1994. *Dasar-Dasar Biokimia*. Jakarta : UI Press.
9. Rempel, B. P. dan S. G. Withers. 2008. *Covalent Inhibitors of Glucosidases and Their Applications in Biochemistry and Biology*. Review Glycobiology (Vol. 18, No. 8): hal. 570-586.
10. Sariyana T., Lidya L. M., Jessy E. P., Navila, S. 2013. *Aktivitas antihiperglikemik dari ekstrak etanol dan n-heksana tumbuhan suruhan (Peperomia pellucida [L] Kunth) pada tikus wistar (Rattus norvegicus L) yang hiperglikemik*. Jurnal Penelitian. Manado : Universitas Sam Ratulangi.
11. Sastrohamidjojo, H. 1996. *Sintesis Bahan Alam*. Yogyakarta : UGM Press.
12. Setiawan, R. 2010. *Pengaruh Pemberian Ekstrak Kelopak Bunga Rosela (Hibiscus sabdariffa L) Terhadap Penurunan Kadar Gula Darah Tikus Putih (Rattus norvegicus) Yang Diinduksi Aloksan*. Skripsi Penelitian. Surakarta : Universitas Sebelas Maret.
13. Sri M. S. S., Hosea J. E., Supriati, S. H. 2013. *Uji Efektivitas Ekstrak Kulit Pisang Goroho (Musa Acuminata L.) Terhadap Penurunan Kadar Glukosa Darah pada Tikus Putih Jantan Galur Wistar yang diinduksi Sukrosa*. Jurnal Penelitian. Manado : Universitas Sam Ratulangi.
14. Sugiawati, S. 2005. *Aktivitas antihiperglikemik dari ekstrak buah mahkota dewa [Phaleria macrocarpa (Scheff.) Boerl.] sebagai inhibitor alfa-glukooksidase in vitro dan in vivo pada tikus putih*. Skripsi Penelitian. Bogor ; IPB.
15. Sulistijowati, A dan Didik, G. 2010. *Hasil Penelitian Efek Ekstra Daun Kembang Bulan*. Pusat Penelitian dan Pengembangan Farmasi, Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Departemen Kesehatan RI. Jurnal Penelitian. Yogyakarta : Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada. Coates, John. 2000. Interpretation of Infrared Spectra, A practical Approach. In encyclopedia of Analytical Chemistry. Pp 10815-10837.